Internationales Buro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6:

B01L 3/00, B01J 19/00

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

29. Dezember 1999 (29.12.99)

WO 99/67024

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP99/04050

A1

(22) Internationales Anmeldedatum:

10. Juni 1999 (10.06.99)

(30) Prioritätsdaten:

198 27 754.7

23. Juni 1998 (23.06.98)

DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): GRAF-FINITY PHARMACEUTICAL DESIGN GMBH [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 515, D-69120 Heidelberg (DE).

(72) Erfinder; und

- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHMIDT, Kristina [DE/DE]; Herrenwiesenstrasse 3/1, D-69126 Heidelberg (DE). VETTER, Dirk [DE/DE]; Zasiusstrasse 22, D-79102 Freiburg im Breisgau (DE).
- (74) Anwalt: PFEIFFER, Rolf-Gerd; Pfeiffer & Partner, Winzerlacr Strasse 10, D-07745 Jena (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN. MW. MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR. NE. SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

- (54) Title: DEVICE FOR CARRYING OUT AN ALMOST SIMULTANEOUS SYNTHESIS OF A PLURALITY OF SAMPLES
- (54) Bezeichnung: EINRICHTUNG FÜR EINE NAHEZU GLEICHZEITIGE SYNTHESE EINER VIELZAHL VON PROBEN

(57) Abstract

The invention relates to a device for carrying out an almost simultaneous synthesis of a plurality of samples. The device is especially suitable for use in automated laboratory processes in the area of combinatorial chemistry. The aim of the invention is to provide a device of this type which enables the synthesis of a plurality of samples bonded to microbeads, said microbeads being provided in the cavities of a support plate. To this end, a plane support plate (1) is provided with a plurality of cavities (11) arranged regularly in an iterative grid. The cavities accommodate microbeads (12). A removable covering (2) is provided, said covering being provided with webs (21) which each cover at least one of a row of associated cavities (11) in such a way that a capitlary gap (3) is formed between the microbeads (12) and the webs (21) and larger recesses (22) are left respectively between the adjacent webs (21). A dosed liquid dispenser (4) is allocated to each capillary gap (3).

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Einrichtung für eine nahezu gleichzeitige Synthese einer Vielzahl von Proben, welche insbesondere im automatisierten Laborbetrieb im Bereich der kombinatorischen Chemie zum Einsatz gelangt. Die Aufgabe der Erfindung, eine derartige Einrichtung anzugeben, die eine Synthese einer

Vielzahl von Proben ermöglicht, die gebunden an Mikroperlen, welche in Kavitäten einer Trägerplatte vorliegen, wird dadurch gelöst, daß eine plane Trägerplatte (1) mit einer Vielzahl von Kavitäten (11) versehen ist, welche in einem wiederholenden Raster regelmäßig angeordnet sind und welche Mikroperlen (12) aufnehmen, wobei eine abnehmbare Abdeckung (2) vorgesehen ist, die mit Stegen (21) versehen ist, welche jeweils mindestens eine einer Reihe zugehörige Kavitäten (11) derart überdecken, daß zwischen den Mikroperlen (12) und den Stegen (21) ein Kapillarspalt (3) und zwischen benachbarten Stegen (21) jeweils eine größere Ausnehmung (22) verbleibt und den Kapillarspalten (3) jeweils ein dosierbarer Flüssigkeitsspender (4) zugeordnet ist.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

BR BY CA CF CG CH CI CM CN CU CZ DE	Brasilien Belarus Kanada Zentralafrikanische Republik Kongo Schweiz Cöte d'Ivoire Kamerun China Kuba Tschiechische Republik Deutschland	IL IS IT JP KE KG KP KR LC LU LK	Israel Island Italien Japan Kenis Kirgisistan Demokratische Volksrepublik Korea Republik Korea Kasachstan St. Lucia Liechtenstein Sri Lanka	MW MX NE NL NO NZ PL PT RO RU SD SE	Malawi Mexiko Niger Niederlande Norwegen Neusceland Polen Portugal Rumanien Russiche Föderation Sudan Schweden	US UZ VN YU ZW	Vereinigte Staaten von Amerika Usbekistan Vietnam Jugoslawien Zimbabwe
		_			••		

Einrichtung für eine nahezu gleichzeitige Synthese einer Vielzahl von Proben

Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft eine Einrichtung für eine nahezu gleichzeitige Synthese einer Vielzahl von Proben, welche insbesondere im automatisierten Laborbetrieb im Bereich der kombinatorischen Chemie zum Einsatz gelangt.

10

15

20

Probenpartikel ("Perlen", "Beads") werden seit Jahrzehnten für die Separation und Synthese im labortechnischen Bereich eingesetzt. Meistens handelt es sich dabei um Glas- oder Polymerkügelchen, welche Durchmesser von 0.01 mm bis 1 mm, typischerweise um die 0.1 mm, besitzen und trocken oder vorgequollen als loses Schüttgut in einen Behälter gefüllt und dann mit Flüssigkeit umspült werden, wobei zwischen der Festphasenoberfläche der Partikel und der sie umgebenden Flüssigkeit ein Adsorptions- oder Reaktionsprozeß abläuft. Verfahren der Säulenchromatographie (z.B. Gelfiltration), der Säulenextraktion, der Immundiagnostik, der Biomolekülreinigung (z.B. DNA-Reinigung) sowie der homogenen und heterogenen Synthese (von Oligonukleotiden, Peptiden oder kombinatorischen Substanzbibliotheken) nutzen diese Technik aus.

Neben der Automatisierung und Miniaturisierung von Labortechniken ist deren Parallelisierung von großem Interesse, um einen höheren Probendurchsatz zu erzielen und damit langwierige Verfahren zu beschleunigen. Zu diesem Zweck werden Proben oft in einem Raster angeordnet, so daß die Identität (Herkunft, Beschaffenheit) der Probe mit einer Flächenkoordinate verknüpft werden kann. Diese Koordinaten sind besonders für automatisierte Systeme zur Probenbearbeitung leicht zu erfassen. Für flüssige Proben sind daher sogenannte Mikrotiterplatten entwickelt worden, welche Kavitäten in rechtwinkligen Anordnungen von 8 x 12 (96 Proben), 10 x 24 (384) oder 32 x 48 (1536) tragen. Die Abmessungen der Kavitäten dieser Probenträger richten sich dabei nach den mit handelsüblichen Geräten (Pipetten) verläßlich dosierbaren

10

20

25

30

Volumina und unterliegen mit dem Fortschreiten der Dosiertechnologie einer kontinuierlichen Miniaturisierung, was durch die beliebige Aliquotierbarkeit (Austeilung einer Mutterprobe in verschiedene Tochterproben) von Flüssigkeiten vereinfacht wird.

Im Rahmen der Arbeiten zur Miniaturisierung von Laborverfahren wird nach Möglichkeiten gesucht, Probenpartikel, analog zur Anordnung von flüssigen Proben, in einem zweidimensionalen Raster zu verteilen. Da die Miniaturisierung der Flüssigkeitsdosierung bereits weit fortgeschritten ist, wird somit der einzelne Partikel zur kleinsten Einheit. Weiterhin besteht die Anforderung, die hohen Stückzahlen, welche bei der Arbeit mit Partikeln üblich sind, zu bewältigen. 1 g Polymerharz enthält ca. 1 Million Partikel.

Zur Befüllung von Mikrotiterplatten oder Reaktionsgefäßen sind 15 verschiedene Lösungen bekannt geworden.

So beschreibt WO 98/24543 A1 eine Vorrichtung zur Übertragung von Flüssigkeiten, bei der unter anderem eine Mikrotiterplatte vorgesehen ist, deren Kammern im Bodenbereich mindestens eine Öffnung aufweisen, die so dimensioniert ist, daß bei einem Befüllvorgang Flüssigkeitsdurchtritt durch diese Öffnung mittels Kapillarkräften vermieden wird. In WO 98/06490 A1 wird eine Apparatur für eine organische Festphasensynthese beschrieben, bei der das Reaktionsgefäß derart über einem Sammelgefäß zur Aufnahme von Flüssigkeit angeordnet ist, daß die Überführung der Flüssigkeit durch Erzeugen eines Unterdrucks erreicht werden kann. Das Halten der Flüssigkeit im wird hingegen durch einen geringen Überdruck Reaktionsgefäß Vorrichtung eine WO 97/19749 A1 ist gewährleistet. Aus für adressierbare kombinatorische Substanzbibliotheken bekannt, bei der jeweils eine Substanz in einem Kapillarröhrchen dargestellt wird, wobei Befüllen mit Flüssigkeit durch Kapillarkräfte erfolgt. WO 97/37755 A1 ist eine Platte beschrieben, die eine Vielzahl von Reaktionszellen enthält, die in Reihen und Spalten angeordnet sind, welche durch Pumpen mit Flüssigkeit versorgt werden. Weiterhin sind in WO 98/16315 A1 und WO 97/43629 A1 Schriften den 35 Flüssigkeitsverteilungssysteme beschrieben, die aus mehreren Platten

35

bestehen, wobei der Flüssigkeitsfluß durch eine Kapillarbarriere bzw. durch elektrokinetisches Pumpen gesteuert und kontrolliert wird.

- Die Miniaturisierung genannter Trägerplatten geht einher mit der Miniaturisierung der entsprechenden Befülltechnologien und stößt bei herkömmlichen automatisierten Pipettiervorrichtungen an geometrische oder zeitliche Grenzen, da jeder einzelne Probenpartikel mit Flüssigkeit zu versorgen ist.
- Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Einrichtung für die nahezu gleichzeitige Synthese einer Vielzahl von Proben, die gebunden an Mikroperlen, welche in Kavitäten einer Trägerplatte vorliegen, anzugeben.
- Die Aufgabe wird durch die Merkmale des ersten Patentanspruchs gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind von den nachgeordneten Ansprüchen erfaßt.
- Die Erfindung soll nachstehend anhand schematischer Ausführungs-20 beispiele näher erläutert werden. Es zeigen:
 - Fig. 1 den grundsätzlichen Aufbau einer erfindungsgemäßen Einrichtung in perspektivischer Ansicht, sowie einer vergrößerten Detaildarstellung,
 - Fig. 2a eine seitliche Ansicht einer Einrichtung nach Fig. 1,
 - Fig. 2b eine Draufsicht auf eine Einrichtung nach Fig. 1,
 - Fig. 3 eine Draufsicht auf eine Einrichtung nach Fig. 1 mit der Lage einer erfindungsgemäßen Abdeckung in zwei Syntheseschritten und
- Fig. 4 eine Ausbildungsmöglichkeit einer Abdeckung mit mehreren Funktionsabschnitten in Draufsicht.

Ohne die Erfindung darauf zu beschränken, wird in Figur 1 von einer Trägerplatte 1 ausgegangen, bei der jeweils in einzelnen Kavitäten 11 Mikroperlen 12 derart vorgesehen sind, daß diese die Kavität überragen. Bei Verwendung von Mikroperlen mit einem Durchmesser von 100 µm

ragen diese im einsortierten Zustand zwischen 20 bis 50 µm aus der Oberfläche der Trägerplatte 1 heraus. Im Beispiel gehören jeweils 9 solcher Mikroperlen zu einem Probenaufnahmebereich, wobei alle Probenaufnahmebereiche zueinander in Zeilen und Spalten ausgerichtet sind (vgl. Fig. 3). Oberhalb der perlengefüllten Trägerplatte 1 ist eine abnehmbare Abdeckung 2 vorgesehen, die als wesentlichste Elemente Stege 21 trägt, welche in ihrer Stegbreite und -länge so ausgebildet sind, daß sie bei Auflage auf die Trägerplatte 1 alle Probenaufnahmebereiche einer Zeile oder Spalte erfassen. Dabei ist, durch das in definierter Weise vorgebbare Überragen der Mikroperlen 12, ein Kapillarspalt 3 vorgebbarer Höhe und durch die Vorgabe der Breite der Stege 21 definierter Breite geschaffen. Bei einer anderen Anordnung der Mikroperlen, bspw. mehrere Mikroperlen zurückgesetzt in einer gemeinsamen Kavität, kann ein solcher Kapillarspalt auch dadurch gebildet sein, daß die Trägerplatte 1 im Bereich der Auflage der Stege 21 und/oder die Stege 21 selbst mit Abstandshaltern definierter Höhe versehen sind.

Zur seitlichen Festlegung der derart gebildeten Kapillarspalte 3 sind die Stege 21 durch größere Ausnehmungen 22 voneinander beabstandet, die so bemessen sind, daß in ihnen keine Kapillarkräfte mehr wirken.

Die Höhe des Kapillarspaltes 3, bei dem noch Kapillarkräfte zum Transport von Flüssigkeiten wirken, hängt von der Oberflächenspannung der Materialien für die Trägerplatte 1 und der Stege 21 und der zum Einsatz gelangenden Flüssigkeit ab. Bei Verwendung von Materialien wie Glas und Metall, zwischen denen ein Spalt gebildet ist, und Wasser als Flüssigkeit, wirken die Kapillarkräfte bis zu Spalthöhen von 500 µm. Eine gezielte Hydrophilisierung des Glases und/oder der Metalloberfläche läßt, bei Verwendung von Wasser, einen Flüssigkeitsstrom durch Kapillarkräfte auch bei größeren Abständen zu. Je nach der zum Einsatz gelangenden Syntheseflüssigkeit können die Stege 21 im Bereich ihrer Auflage auf der Trägerplatte mit einer hydrophilen oder hydrophoben Oberfläche versehen sein, wobei zumindest die Seitwandungen der die Stege begrenzenden Ausnehmungen 22 mit einer jeweils entgegengesetzt wirkenden Oberflächenbelegung versehen sein sollen.

10

15

20

25

30

15

20

25

Der durch die im Beispiel durch die überstehenden Mikroperlen 12 gebildete Kapillarspalt eröffnet die Möglichkeit, gezielt Flüssigkeiten entlang des Spaltes fließen zu lassen. Dabei ist im Beispiel für die Abdeckung 2 eine strukturierte Deckplatte eingesetzt, die parallele Ausnehmungen 22 aufweist. Die Ausnehmungen 22 bewirken eine Trennung von zwei zueinander parallel verlaufenden Kapillarspalten.

Die Befüllung der Kapillarspalte kann erfolgen, indem an die Stirnfläche der Abdeckung, jeweils an den Anfang eines Spalts, Flüssigkeit pipettiert wird, wie es in Fig. 1 anhand eines Spaltes mittels eines dosierbaren

Flüssigkeitsspenders 4 schematisch angedeutet ist.

Um jeden Kapillarspalt mit einer anderen Flüssigkeit zu befüllen, erfordert dies ein sehr sorgfältiges Pipettieren der Flüssigkeiten, um das Vermischen zweier Flüssigkeiten zu verhindern. Um eine gleichzeitige und gleichmäßig dosierte Befüllung aller Kapillarspalte 3 zu gewährleisten, ist es vorteilhafter, die Flüssigkeitszufuhr über Bohrungen 13 in der Trägerplatte 1 oder Bohrungen 25 in der Abdeckung 2, die jeweils einer Zeile und Spalte der in einer Reihe befindlichen Kavitäten vorgelagert ist, vorzunehmen. Über mit diesen Bohrungen verbundene schlauchartige Anschlüsse 5 oder Adapterstücke erfolgt eine Verbindung zu im weiteren nicht näher dargestellten und jeweils einer Zeile oder Spalte zugeordneten Flüssigkeitsreservoirs, z.B. einer Spritzenpumpe, wobei vorteilhaft vorgesehen ist, alle Flüssigkeitreservoirs gemeinsam mit einem einheitlichen definierten Druck zu beaufschlagen. Über solche Anbindungen können nun wohldosiert Flüssigkeiten in die Kapillarspalte eingeführt werden. Die Pumprate der Spritzenpumpe muß dabei sehr genau an die Fließgeschwindigkeit der Flüssigkeit, getrieben durch die Kapillarkräfte, angepaßt sein, was im Einzelfall experimentell ermittelbar ist, um ein Übersprechen der Flüssigkeit von einem Kapillarspalt zum benachbarten zu vermeiden.

Wie bereits angedeutet, ist es ebenfalls möglich, die Befüllung der Kapillarspalte über die Deckplatte 2 zu realisieren. Dann sind in der Deckplatte, mittig zu den Stegen 21, die Bohrungen für die Anbindung von Schläuche herzustellen. Eine solche Ausführung erlaubt es ebenso, anstatt von Schlauchanbindungen einen Adapter für eine Mikrotiterplatte vorzusehen, und die Befüllung der Kapillarspalte durch Ausnutzung von hydrostatischen Druckunterschieden zu realisieren.

10

Ein Vorteil bei Verwendung von Spritzenpumpen, verknüpft mit Schlauchanbindungen stellt die Abgeschlossenheit des Systems dar, so daß Verdunstungen vermieden werden. Dieses geschlossene System ist auch dann von Vorteil, wenn Chemikalien verwendet werden, die nicht mit Luft in Berührung kommen dürfen.

Mit den beschriebenen Varianten, kann eine Befüllung von beliebig vielen Zeilen mit Flüssigkeiten erfolgen. Derzeitig, in Anpassung an vorhandene Mikrotiterplatten, sind mit der beschriebenen Einrichtung 96 Zeilen gleichzeitig befüllbar. Der Anzahl an Zeilen sind dabei jedoch keine Grenzen gesetzt, und mit zunehmendem Einsatz von mikrotechnischen Bearbeitungsverfahren lassen sich weit mehr als 100 Zeilen realisieren.

- Figur 2a zeigt eine Ausführung der Einrichtung nach Fig. 1 in einer 15 vorderen seitlichen Ansicht, dabei ist die Trägerplatte 1 mit Bohrungen 13 versehen, von denen in Fig. 2a lediglich fünf dargestellt sind, an die sich schlauchartige Anschlüsse 5 anschließen, die zu nicht dargestellten Flüssigkeitsreservoirs 4 führen. Die Trägerplatte 1 ist ihrerseits von einem Verschiebetisch V aufgenommen, der eine laterale Verschiebung parallel 20 zur Blattnormalen ermöglicht. Die Trägerplatte 1 und die Abdeckung 2 sind weiterhin zueinander vermittels einer Führung 6 verbunden. Eine solche Ausbildung ermöglicht die Aufnahme einer weiter ausgestalteten Abdeckung 2, wie sie in Fig. 2b in Draufsicht näher dargestellt ist. Neben der bisher beschriebenen transparenten Abdeckung 2, mit den ihr 25 gegebenen Stegen 21, beinhaltet die Abdeckung 2 weiterhin einen porösen Abschnitt 23, welchem ein planarer Abschnitt 24 nachgeordnet ist, der in seiner Ausdehnung so bemessen ist, daß er die gesamte Trägerplatte 1 unter Bildung eines alle Probenbereiche erfassenden Kapillarspaltes abzudecken vermag, wenn dieser Abdeckungsbereich 30 über die Trägerplatte 1 verschoben ist. Die vollständige Ausbildung einer derartigen Abdeckung allein ist in Fig. 4 dargestellt, wobei dort alternativ die Bohrungen 25 dem ersten Teil der Abdeckung 2 zugeordnet sind.
 - Zur eigentlichen Synthese der gewünschten Proben wird mit der beschriebenen Einrichtung wie folgt verfahren: Die mit Mikroperlen 12,

15

20

die bei geeigneter Porosität bspw. ein Probenflüssigkeitsvolumen von 0,25 nl aufzunehmen vermögen, gefüllte Trägerplatte 1 der Größe 250 - 250 mm² wird mit der Abdeckung 2 mit den Ausnehmungen 22 in Kontakt gebracht. Über eine nicht näher dargestellte Justiervorrichtung werden Trägerplatte 1 und die Abdeckung 2 zueinander ausgerichtet, so daß jeweils ein hervorstehender Steg 21 auf einer Reihe mit perlengefüllten Reaktionskammern aufliegt. Die Stege 21 verbinden bspw. eine Zeile mit 96 Probenfeldern, die 864 Mikroperlen 12 tragen. Trägerplatte besitzt im Beispiel außerdem Durchgangsbohrungen 13, die in der Verlängerung der Zeilen und Spalten der Perlenarrays liegen. An diese Bohrungen sind an der Rückseite der Trägerplatte die beschriebenen Schläuche 5 befestigt. Die Chemikalien gefüllten führen Zu den mit Schläuche 192 Flüssigkeitreservoirs, bspw. Spritzen. Die Spritzen werden mit einem Spritzenantrieb gleichzeitig mit Druck beaufschlagt, und die Flüssigkeiten werden über die Schläuche 5 zu der Trägerplatte 1 transportiert. Je ein Kapillarspalt 3 wird mit jeweils einer Chemikalie befüllt. Dies wird erreicht, indem das Ende eines jeden Steges genau über einer Bohrung sitzt, aus der die Flüssigkeit in den Kapillarspalt dringt. Die Pumprate, gesteuert durch die Spritzenantriebe muß mit der Fließgeschwindigkeit der Flüssigkeit korrelieren, die durch die Kapillarkräfte getrieben wird. Bei Verwendung eines etwa 30 μm hohen, 1000 μm breiten Kapillarspaltes mit einer Länge von 250 mm dauert ein Befüllvorgang ca. 3 min.

Die Trägerplatte 1 befindet sich auf dem Verschiebetisch V, der eine Bewegung parallel zu den Stegen 21 ermöglicht. Die Abdeckung soll im Beispiel hingegen während der gesamten Synthese fest arretiert sein. Im Anschluß an den ersten Syntheseschritt wird die Trägerplatte 1 unterhalb der Abdeckung 2 entlang der Stege 21 verschoben. Dabei werden die Mikroperlen an dem porösen Abschnitt 23 der Abdeckung 2 vorbeigeführt. Die Porengröße des porösen Abschnitts muß dabei deutlich geringer sein, als der Durchmesser der Mikroperlen. Das poröse Gebiet saugt die Synthesechemikalien auf und diese werden von dort mittels einer unter Unterdruck abreitenden und nicht näher dargestellten Vorrichtung ableitet und die Mikroperlen 12 auf diese Weise getrocknet. Die Trägerplatte 1 wird vollständig unter der porösen Zone vorbeigeführt,

15

20

25

30

35

bis die gesamte Trägerplatte sich im hinteren Bereich der Abdeckung, der eine ebene Oberfläche gegeben ist, befindet. In diesem Bereich 24 erfolgt eine Drehung der Trägerplatte 1 um 90°, die für den zweiten Syntheseschritt notwendig ist. Dabei wird auch hier die Trägerplatte 1 mittels eines Drehtischs bewegt, während die Abdeckung fest eingespannt bleibt. Nach der Drehung der Trägerplatte 1 erfolgt ein Spülen der Mikrosyntheseperlen. Die Spüllösung wird ebenfalls durch Kapillarkräfte zu den Perlen transportiert. Ein erneutes Trocknen der Perlen erfolgt durch ein Überstreichen des porösen Abschnitts 23 der Abdeckung, wie oben beschrieben. Danach befindet sich die Abdeckung 2 wieder in einer Syntheseposition. Der zweite Syntheseschritt läuft nun in der gleichen Art und Weise ab, die Trägerplatte 1 liegt jedoch um 90° gedreht unter der Deckplatte, und ein weiterer Kopplungsschritt erfolgt. Weitere Kopplungsschritte sind in beliebiger Anzahl möglich. Nach der beschriebenen zweistufigen Synthese sind somit, ausgehend von 96 Zeilen und 96 Spalten, 9216 verschiedene Kombinationen von zweimal 96 Substanzen entstanden. Weitere Syntheseschritte, jeweils nach einer Drehung der Platten zueinander, sind in beliebiger Anzahl möglich. Zwei der beschriebenen Synthesepositionen sind in Figur 3 am Beispiel von sechzehn Zeilen (1 bis 16) und sechzehn Spalten (A bis Q) beispielhaft dargestellt.

Für die Abdeckung 2 hat sich als besonders vorteilhaft die Verwendung von Borofloatglas erwiesen. Um den Flüssigkeitsstrom, der sich in genannten Kapillarkanålen ausbildet visuell überwachen zu können, sollte in jedem Fall ein transparentes Material für die Abdeckung 2 gewählt werden. Das Glas zeichnet sich zudem durch eine hohe Ebenheit aus, ein wichtiges Kriterium für die Realisierung gleichmäßig dicker Kapillarspalte über eine Länge von 250 mm. In die Abdeckung sind in einem ersten Bereich, unter der Voraussetzung von 96 Zeile bzw. Spalten, 97 Ausnehmungen 22 mit einem Abstand von 2,25 mm mittels Diamantwerkzeugen eingearbeitet. Die Tiefe und Breite einer Ausnehmung ist so dimensioniert, daß die Ausnehmung 22 selbst nicht mehr als Kapillare wirkt. In der beschriebenen Ausführung sind dafür eine Breite von 1000 μm und eine Tiefe von 1500 μm gewählt, somit bleiben zwischen zwei Ausnehmungen Stege 21 mit einer Breite von

1,25 mm stehen. Die Verwendung anderer Materialien für die Abdeckung liegt im Rahmen der Erfindung.

Die oben beschriebene Ausbildung der Abdeckung 2 ist im Sinne der Handhabung und der Stabilität der Einrichtung die vorteilhafteste. Es liegt jedoch ebenfalls im Rahmen der Erfindung, die vorgesehenen Stege durch eine parallele Anordnung von Streifen zu realisieren. Hierfür werden in Breite und Länge entsprechend dimensionierte einzelne Glasstreifen eingesetzt. Die Höhe der Streifen kann dabei beliebig gewählt sein und richtet sich nach der erwünschten Stabilität der Einrichtung. Die einzelnen Streifen werden im Abstand der Probenaufnahmebereiche parallel angeordnet und an ihren Enden durch Aufkleben auf einen Trägerstreifen oder eine Trägerplatte zueinander fixiert.

Bezugszeichenliste

1	-	Trägerplatte
11	•	Kavitäten
12	-	Mikroperlen
13, 25	-	Bohrungen
2	-	Abdeckung
21	-	Stege
22	-	Ausnehmungen zwischen den Stegen 21
23	-	poröser Abschnitt
24	-	planarer Abschnitt
3	-	Kapillarspalt
4	•	Flüssigkeitsspender
5	-	Anschlüsse
6	-	Führung

10

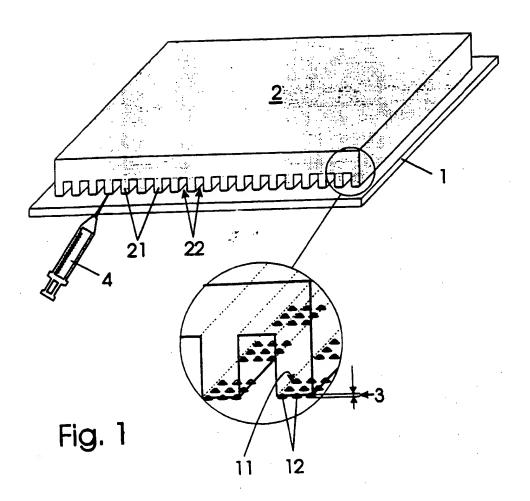
15

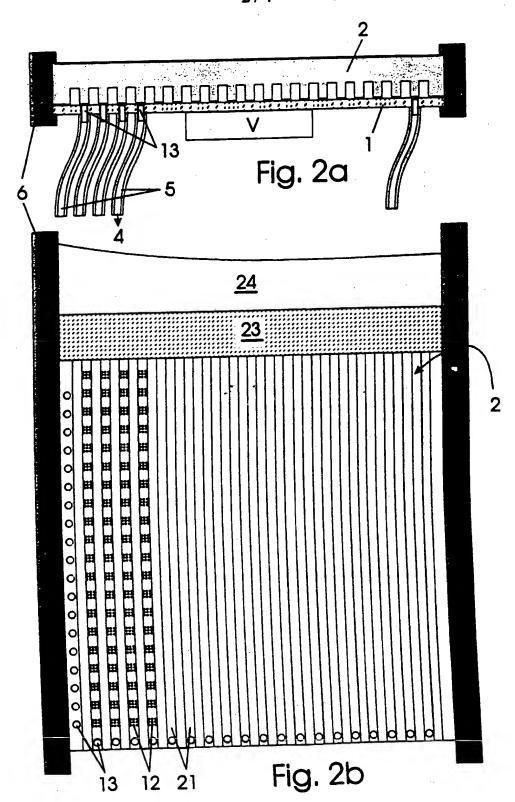
20

Patentansprüche

- 1. Einrichtung für eine nahezu gleichzeitige Synthese einer Vielzahl von Proben, beinhaltend eine plane Trägerplatte (1) mit einer Vielzahl von Kavitäten (11), welche in einem wiederholenden Raster unter Ausbildung von Reihen regelmäßig angeordnet sind und welche Mikroperlen (12) aufnehmen, dadurch gekennzeichnet, daß eine abnehmbare Abdeckung (2) vorgesehen ist, die mit Stegen (21) definierter Breite versehen ist, welche jeweils mindestens eine einer Reihe zugehöriger Kavitäten (11) derart überdecken und beabstanden, daß zwischen den Mikroperlen (12) und den Stegen (21) Kapillarspalte (3) gebildet werden, denen jeweils ein dosierbarer Flüssigkeitsspender (4) zugeordnet ist, und zwischen benachbarten Stegen (21) jeweils eine so große Ausnehmung (22) verbleibt, daß diese kapillarinaktiv ist.
- 2. Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Abdeckung (2) gebildet ist durch eine transparente Platte, in die parallele Vertiefungen zur Bildung der größeren Ausnehmungen (22) eingebracht sind.
- 3 Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Kapillarspalte (3) gebildet sind durch eine Beabstandung von aus den Kavitäten (11) herausragenden Mikroperlen (12).
- 4. Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Kapillarspalte (3) gebildet sind durch Abstandshalter auf der Trägerplatte (1) und/oder auf den Stegen (21).
- 5. Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Stege (21) im Bereich ihrer Auflage auf der Trägerplatte (1) mit einer hydrophilen oder hydrophoben Oberfläche versehen sind, wobei zumindest die Seitwandungen der die Stege (21) begrenzenden Ausnehmungen (22) mit einer jeweils entgegengesetzt wirkenden Oberflächenbelegung versehen sind.

- 6. Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Trägerplatte (1) und die Abdeckung (2) zueinander in einer lateral verschiebbaren und um 90° drehbaren Verbindung vermittels einer Führung (6) gehaltert sind.
- 7. Einrichtung nach Anspruch 1 und 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Abdeckung (2), den Stegen (21) nachgeordnet, ein oder mehrere poröse Abschnitte (23) und ein weiterer, die gesamte Trägerplatte (1) erfassender planarer Abschnitt (24) zugeordnet sind.
- 8. Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die spaltbezogene Flüssigkeitszufuhr über Bohrungen (13), die jeweils einer Reihe von Kavitäten vorgelagert sind, in der Trägerplatte (1) erfolgt.
- 9 Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die spaltbezogene Flüssigke tszufuhr über Bohrungen (25), die jeweils einer Reihe von Kavitäten vorgelagert sind, in der Abdeckung (2) erfolgt.
- 20 10. Einrichtung nach Anspruch 1 und 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, schlauchartigen (13 oder 25) mit Bohrungen daß genannte Anschlüssen (5) oder Adapterstücken versehen sind, die jeweils mit beaufschlagbaren Druck definierten einem einem. mit Flüssigkeitreservoir (4) in Verbindung stehen. 25





3/4

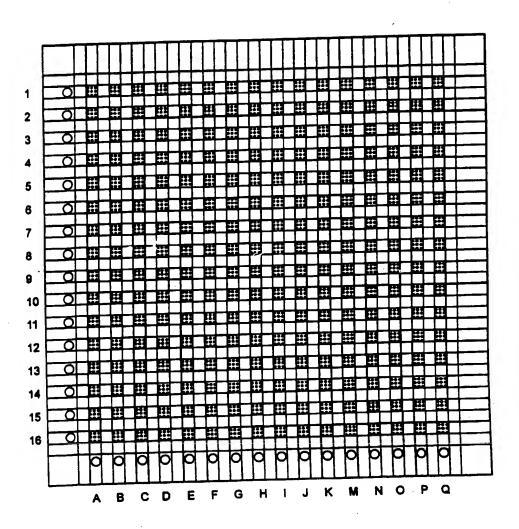
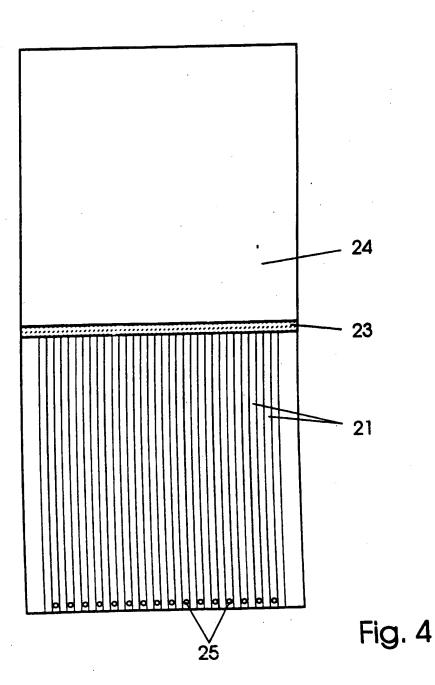


Fig. 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interr 'nnal Application No PC1/EP 99/04050

A. CLASSIF IPC 6	BOIL3/00 BOIJ19/00		
Anne miles in	International Patent Classification (IPC) or to bounnational classificati	on and IPC	
e cici ne i	READCHED		
Minimum do	cumeritation searched (classification system followed by classification	symbols)	
	ion searched other than minimum documentation to the extent that su		rched
Electronic di	ata base consulted during the international search (name of data base	and, where practical, search terms develop	·
C. DOCUM	ENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the rele	vent pessages	Relevant to claim No.
Α	WO 98 15355 A (DANNOUX THIERRY L / ;CORNING INC (US)) 16 April 1998 (1998-04-16)	A	1
A	WO 97 37755 A (SARNOFF CORP) 16 October 1997 (1997-10-16) page 11, line 12-29; figure 3		1
A .	WO 97 33737 A (HARVARD COLLEGE) 18 September 1997 (1997-09-18) page 11, line 24 -page 12, line 5	; f1gure	1
	-,	/	
		Day of the suppose on fefact	n enney
X Fur	ther documents are listed in the continuation of box C.	Patent family members are fisted I	
"A" docum cons "E" earlier filling "L" docum whice citati "O" docum other	nent defining the general state of the art which is not idered to be of particular relevance or document but published on or after the international plate on the publication of the categories	"I later document published after the inter- or priority date and not in conflict with cited to understand the principle or the invention "X" document of particular relevance; the o- cannot be considered novel or cannol involve an inventive step when the do- "Y" document of particular relevance; the o- cannot be considered to involve an in document is combined with one or m ments, such combination being obvior in the art. "&" document member of the same paters'	telimed invention be considered to current is taken alone stained invention ventive step when the one other such docu- us to a person skilled
leter	than the priority date common	Date of mailing of the international se	
Date of the	ne ectual completion of the international search 11 October 1999	19/10/1999	
Name er	nd mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL - 2280 HV Rijewrijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo ni, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Zinngrebe, U	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter 'onal Application No PC1/EP 99/04050

C.(Continu	ILION) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages		Relevant to claim No.
A	EP 0 075 605 A (STOCKER WINFRIED DR MED) 6 April 1983 (1983-04-06) page 13, paragraph 2; claims 1,7; figure 2 page 14, last paragraph -page 15, paragraph 1 page 15, last paragraph -page 16, paragraph 1 page 18, paragraph 2 - paragraph 3; figures 8,9,11 page 20, last paragraph -page 21, paragraph 1		1
A	US 5 429 807 A (SOUTHERN EDWIN M ET AL) 4 July 1995 (1995-07-04) column 1, line 40 - line 47 column 3, line 35 - line 58		1
A	WO 91 17832 A (DYLLA RAINER) 28 November 1991 (1991-11-28) page 19; figures 1,2,8	·	1
			. <u>**</u> **
		·	
-			
.			

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Jornation on patent family members

Interro nel Application No PCT/EP 99/04050

	itent document in search repor	nt _	Publication date		Patent family member(s)		Publication date
MO	9815355		16-04-1998	FR.	2754469	A	17-04-1998
				AU	4747197	A	05-05-1998
MO.	9737755	A	16-10-1997	US	5840256	A	24-11-1998
				AU	2609997	Α	29-10-1997
				CA	2251160	Α	16-10-1997
				EP	0892672	Α	27-01-1999
				AU	4980397	Α	11-05-1998
			,	EP	0946302	A	06-10-1999
				MO	9816315	A	23-04-1998
WO	9733737	A	18-09-1997	AU	2324797	A	01-10-1997
	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •			CA	2248576	A	18-09-1997
				EP	0894043	A	03-02-1999
EP	0075605	Α	06-04-1983	AT	25009	T	15-02-1987
115	5429807	A	04-07-1995	DE	69418595	D	24-06-1999
•	5123001			DE	69418595	Ţ	16 - 09-19 9 9
				EP	0675760	Α	11-10-1995
				JP	8505407	T	11-06-1996
				MO	9511748	A	04-05-1995
	9117832	Α	28-11-1991	AU	7042391	A	10-12-1991
			_, ,, ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	DE		D	05-10-1995
				ΕP	0530186	Α	10-03-1993

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter *onales Aktenzeichen

.•		C1/EP 99/04	9/04050		
A. KLASSII IPK 6	FIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES B01L3/00 B01J19/00		<u> </u>		
			•		
vach der Int	ternationalen Patentidassiffication (IPK) oder nach der nationalen Klassi	fikation und der IPK			
. RECHEF	CHIERTE GEBIETE ter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)			
IPK 6	BOIJ BOIL				
Recherchier	te aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, sow	elt diese unter die recherc	hierten Gebiete falle	n	
Withmord de	or internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Na	me der Datenbank und ex	/tl. verwendste Such	begriffe)	
12 H 01 10 00					
C. ALS WE	SENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe	der in Betracht kommende	ın Telle	Betr. Anspruch Nr.	
	·			•	
A	WO 98 15355 A (DANNOUX THIERRY L A ;CORNING INC (US)) 16. April 1998 (1998-04-16)	1		1	
A	WO 97 37755 A (SARNOFF CORP)		·	1	
	Seite 11, Zeile 12-29; Abbildung 3			•	
A .	WO 97 33737 A (HARVARD COLLEGE) 18. September 1997 (1997-09-18) Seite 11, Zeile 24 -Seite 12, Zeil Abbildung 1	e 5;	·		
	-/	/			
				•	
	ittere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu	X Slehe Anheng Pa			
* Besonde *A* Veröff aber *E* åltere Anm *L* Veröff sche and so ause *O* Verö eine *P* Verö	in kaegonen von augemeinen Stand der Technik definiert, entlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist se Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen seldedatum veröffentlicht worden ist jerstlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zwelfelhaft er- siren zu lessen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer eren im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung beiegt werden oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie geführt) geführt, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach h beanspruchten Prioritätsdatum eröffentlicht worden ist	oder dem Priomassa. Anmelkung nicht totil Erlindung zugrundellt Theorie angegeben it kann allein aufgrund- tann allein aufgrund- verlinderlecher Tätigku "Y" Veröffentlichung von i kann nicht als auf erf	cliert, sondern nur zu egenden Prinzips od R besonderer Bedeutur dieser Veröffertlichus alt beruhend betrach besonderer Bedeutur inderlecher Tätigkeit röffentlichung mit ei lieser Kategorie in V r einen Fachmann ni Mitglied derseiben P	im vertands ove dat ar der ihr zugrundellegenden ng; die beanspruchte Erfindur ing nicht als neu oder auf ng; die beanspruchte Erfindur beruhend betrachtet ner oder mehreren anderen arbindung gebracht wird und abellegend ist etentfamilie ist	
Deturn de	se Abschlusses der Internationalen Recherche	19/10/19			
	11. Oktober 1999 nd Poetanechrift der Internetionalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter B			
Name ur	nd Postanscrint use an arrangement in the relations ?	1			

1

Europäisches Patentiamt, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL – 2280 HV Rijewijk Tel. (-31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo ni, Fax: (+31-70) 340-3016

Zinngrebe, U

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter Nonalee Aktenzeichen
PC1/EP 99/04050

C /Fortnets	ing) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN	C1/Er 99/	
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommende	n Telle	Betr. Anepruch Nr.
A	EP 0 075 605 A (STOCKER WINFRIED DR MED) 6. April 1983 (1983-04-06) Seite 13, Absatz 2; Ansprüche 1,7; Abbildung 2 Seite 14, letzter Absatz -Seite 15, Absatz 1 Seite 15, letzter Absatz -Seite 16, Absatz 1 Seite 18, Absatz 2 - Absatz 3; Abbildungen		1
	8,9,11 Seite 20, letzter Absatz -Seite 21, Absatz 1		
A	US 5 429 807 A (SOUTHERN EDWIN M ET AL) 4. Juli 1995 (1995-07-04) Spalte 1, Zeile 40 - Zeile 47 Spalte 3, Zeile 35 - Zeile 58		1
A	WO 91 17832 A (DYLLA RAINER) 28. November 1991 (1991-11-28) Seite 19; Abbildungen 1,2,8		1
·			